НОВАЯ ЭРА НАУКИ И ЗНАНИЙ
МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ
global-science-review.com
editor@global-science-review.com

SHOLI (*ORYZA SATIVA L.*) GENOMINI CRISPR/CAS9 ORQALI TAHRIRLASH: QURG‘OQCHILIK VA SHO‘RLANISHGA KOMPLEKS CHIDAMLILIKNI TA’MINLASH IMKONIYATLARI.

Ismatova Shahzodabonu Rizomat qizi
shahzodabonuismatova@gmail.com
Turayev Ozod Sunnatalievich
ozodturaev@gmail.com
Ziyaev Zafarjon Mashrapovich
zafaruzripi@gmail.com
Qishloq xo‘jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazi huzuridagi O‘simliklar genetik resurslari ilmiy-tadqiqot instituti

Annotatsiya

Ushbu tahliliy maqolada global iqlim o‘zgarishi va suv resurslarining tanqisligi sharoitida sholi (*Oryza sativa L.*) o‘simligining qurg‘oqchilik va sho‘rlanish kabi abiotik stress omillariga chidamliligini oshirishda CRISPR/Cas9 genom tahrirlash texnologiyasining o‘rni hamda amaliy imkoniyatlari yoritilgan. Tadqiqotda abiotik stresslarga javob beruvchi kalit genlar (*OsRR22*, *OsDST*, *OsDRO1* va boshqalar) hamda ularning o‘simlik fiziologiyasidagi osmotik va ion muvozanatini saqlashdagi molekulyar mexanizmlari tahlil qilingan. Shuningdek, gRNA dizayni, *Agrobacterium*-vositasidagi transformatsiya samaradorligi va in-vitro to‘qima kulturasi bosqichlaridagi texnik omillar atroflicha ko‘rib chiqilgan. Tahlillar natijasida, salbiy regulyator genlarni nokaut (*knockout*) qilish orqali bir vaqtning o‘zida ham sho‘rlanishga, ham qurg‘oqchilikka kompleks chidamli transgenik bo‘lmagan (*transgene-free*) yangi liniyalarni olish istiqbollari baholangan. Maqola natijalari sho‘rlangan va suvsiz hududlar uchun sholining moslashuvchan navlarini yaratishda va molekulyar seleksiya dasturlarini jadallashtirishda ilmiy-amaliy asos bo‘lib xizmat qiladi.

Kalit so‘zlar: *Oryza sativa L.*, CRISPR/Cas9, genom tahrirlash, qurg‘oqchilik, sho‘rlanish, *OsRR22*, *OsDST*, abiotik stress, tahliliy sharh.

ABSTRACT

This review article highlights the role and practical potential of CRISPR/Cas9 genome editing technology in enhancing the resilience of rice (*Oryza sativa L.*) to abiotic stresses, particularly drought and salinity, under conditions of global climate change and water scarcity. The study analyzes key stress-responsive genes (*OsRR22*, *OsDST*, *OsDRO1*, etc.) and their molecular mechanisms in maintaining osmotic and ionic balance in plant physiology. Technical aspects such as gRNA design, *Agrobacterium*-mediated transformation efficiency, and in-vitro tissue culture stages are thoroughly examined. As a result of the analysis, the prospects of obtaining transgene-free lines with combined tolerance to both drought and salinity by knocking out negative regulator genes are evaluated. The findings serve as a scientific basis for accelerating molecular breeding programs and developing stress-resilient rice cultivars for salt-affected and arid environments.

Keywords: *Oryza sativa L.*, CRISPR/Cas9, genome editing, drought, salinity, *OsRR22*, *OsDST*, abiotic stress, review.

KIRISH

Aholining jadal o‘sishi hamda global iqlim o‘zgarishlari sharoitida oziq-ovqat xavfsizligini ta’minlash zamonaviy agrar fanning eng ustuvor vazifalaridan biridir. Dunyo aholisining yarmidan ko‘prog‘i uchun asosiy oziq-ovqat manbai bo‘lgan sholi (*Oryza sativa L.*) yetishtirish jarayoni bugungi kunda jiddiy ekologik tahdidlarga duch kelmoqda. Ayniqsa, chuchuk suv resurslarining keskin qisqarishi va sho‘rlangan ekin maydonlarining kengayishi sholi hosildorligini cheklovchi yetakchi abiotik omillar qatoridan o‘rin olgan. O‘simlik fiziologiyasida qurg‘oqchilik va tuz stressi osmotik bosimning ortishi hamda ion toksikligi kabi o‘xshash patologik zanjirlarni faollashtirib, hujayra darajasida strukturaviy buzilishlarni keltirib chiqaradi.

Ushbu muammolarni bartaraf etishda an’anaviy seleksiya usullari, ya’ni gibridlash va fenotipik saralash muayyan yutuqlarni ta’minlagan bo‘lsa-da, bu jarayonlarning uzoq vaqt talab qilishi va ko‘pincha istalmagan genetik zanjirlarning (linkage drag) birga o‘tishi kabi cheklovlari mavjud. Shu sababli, ekinlarning salbiy iqlim omillariga moslashuvchanligini qisqa muddatda va aniq nishon asosida oshirishga qodir zamonaviy molekulyar biotexnologik yondashuvlarga ehtiyoj ortib bormoqda.

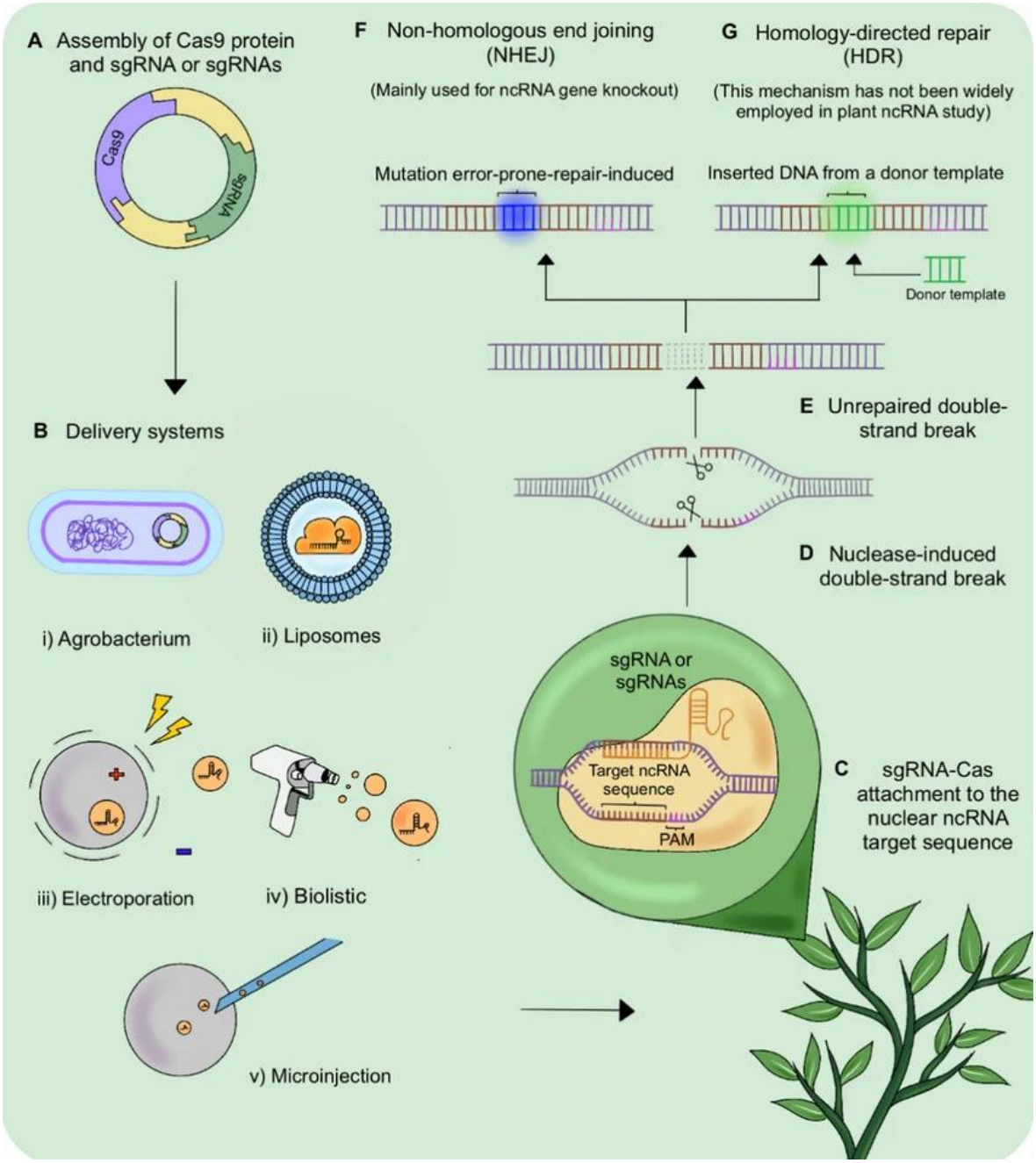
So‘nggi yillarda gen muhandisligida inqilobiy burilish yasagan CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) genom tahrirlash platformasi aniq yo‘naltirilgan mutatsiyalarni hosil qilish imkoniyati bilan ajralib turadi. An’anaviy transgenozdan farqli o‘laroq, ushbu texnologiya o‘simlik genomiga yot DNK ketma-ketliklarini kiritmasdan, target genlarning funksiyasini modifikatsiya qilish yoki ularni nokaut (*knockout*) qilish imkonini beradi. Bu esa olingan yangi liniyalarning transgenik bo‘lmagan (*transgene-free*) statusga ega bo‘lishini va biohavfsizlik talablariga to‘liq mos kelishini ta’minlaydi.

Sholida abiotik stresslarga javob beruvchi genetik tarmoqlarni tahrirlashda, ayniqsa, chidamlilikni salbiy boshqaruvchi regulyator genlarni (*OsRR22*, *OsDST* va b.) nishonga olish yuqori samaradorlik ko‘rsatmoqda. Ushbu tahliliy maqolaning maqsadi — sholi genomini CRISPR/Cas9 yordamida tahrirlash orqali bir vaqtning o‘zida ham qurg‘oqchilik, ham sho‘rlanishga kompleks chidamlilikni ta’minlashning molekulyar mexanizmlari, so‘nggi amaliy yutuqlari va amaliyotga joriy etishdagi mavjud texnik cheklovlarni tizimli ravishda tahlil qilishdan iborat.

SHOLI GENOMIDA ABIOTIK STRESSLARGA JAVOB BERUVCHI KALIT GENLAR VA ULARNING MOLEKULYAR MEXANIZMLARI

O‘simliklarning atrof-muhitning noqulay omillariga, xususan, tuproq sho‘rlanishi va suv tanqisligiga javobi murakkab molekulyar hamda fiziologik kaskadlar orqali boshqariladi. Sholi (*Oryza sativa L.*) genomida ushbu jarayonlarni regulyatsiya qiluvchi ko‘plab genlar aniqlangan bo‘lib, ularning bir qismi stressga

chidamlilikni pasaytiruvchi **salbiy regulyatorlar (negative regulators)** hisoblanadi. CRISPR/Cas9 tizimi yordamida aynan shu turdagi genlarni nokaut (*knockout*) qilish o‘simlikning moslashuvchanlik imkoniyatlarini keskin oshirishga imkon beradi.



1-rasm. CRISPR/Cas9 tizimining sholi hujayrasida target genni kesish sxemasi

Sho‘rlanishga chidamlilikni belgilovchi genetik omillar (*OsRR22*)

Sho‘rlanish stressi sholi hujayralarida Na^+ ionlarining haddan tashqari to‘planishi va

K^+/Na^+ muvozanatining buzilishiga olib keladi. Cytokinin response factor hisoblangan *OsRR22* geni o‘simlikda ion gomeostazini salbiy nazorat qiluvchi asosiy omillardan biridir. Ushbu gen ketma-ketligida CRISPR/Cas9 vositasida maqsadli inaktivatsiya (frameshift mutatsiyasi) amalga oshirilganda, ildiz tizimi orqali natriy ionlarining ortiqcha so‘rilishi cheklanadi. Natijada, vegetativ o‘sish davrida o‘simlikning fotosintetik apparati zararlanmaydi va bio-massani saqlab qolish samaradorligi ortadi.

Qurg‘oqchilik va kompleks chidamlilik transkripsiya omillari (*OsDST*)

DST (*Drought and Salt Tolerance*) geni zink-finger tipidagi transkripsiya omili bo‘lib, u stomatalar apparatining mikroskopik harakatini va H_2O_2 metabolizmini nazorat qiladi. *OsDST* genining funksional faolligi susaytirilganda, barg sirtidagi stomatalar teshiklarining kengligi qisman torayadi va transpiratsiya orqali suv yo‘qotilishi sezilarli darajada kamayadi. Eng muhimi, *OsDST* genining nokaut qilinishi bir vaqtning o‘zida ham qurg‘oqchilik sharoitida turgor bosimini saqlashga, ham sho‘rlangan muhitda o‘simlikning ion toksikligiga chidamliligini oshirishga xizmat qiladi

CRISPR/Cas9 YORDAMIDA SHOLINI TAHRIRLASHNING AMALIY HISOBOTLARI

Tahlil qilingan xalqaro va mahalliy ilmiy manbalar shuni ko‘rsatadiki, tahrirlash samaradorligi ko‘p jihatdan gRNA (guide RNA) dizaynining aniqligi va *Agrobacterium tumefaciens* orqali kallus to‘qimaga vektorlarni samarali yetkazib berishga bog‘liq.

Sholida abiotik stress genlarini CRISPR/Cas9 orqali tahrirlash bo‘yicha tadqiqotlar tahlili:

Target gen	Tahrirlash strategiyasi	Olingan fiziologik va fenotipik o‘zgarishlar	Ilmiy natija samaradorligi
OsRR22	Ekzon sohasida target mutagenez (Knockout)	Na^+/K^+ muvozanati saqlandi, ildiz o‘sishi sho‘r muhitda to‘xtamaydi	Sho‘rlangan tuproqda hosildorlik ko‘rsatkichlari saqlanadi
OsDST	Promotor va kodlovchi soha tahriri	Stomatalar o‘lchami torayadi, transpiratsiya intensivligi kamayadi	Qurg‘oqchilik va sho‘rlanishga kompleks chidamlilik shakllanadi
OsDRO1	Gen ekspressiyasini modifikatsiyalash	Ildiz tizimining vertikal chuqurlashuvi va burchagi o‘zgaradi	Chuqur qatlamlardagi suvdan foydalanish evaziga suvsizlikka chidamlilik ortadi

MAVJUD TEXNIK CHEKLOVLAR VA TRANSGENE-FREE LINIYALAR OLISH ISTIQBOLLARI

Genomni tahrirlashda eng asosiy masalalardan biri nojo‘ya mutatsiyalar (*off-target*) xavfini minallashtirish va T1-T2 avlodlarda Cas9/gRNA konstruksiyalaridan holi bo‘lgan transgen-free o‘simliklarni ajratib olishdir. Mendeling irsiylanish qonuniyatlariga ko‘ra segregatsiya o‘tkazish orqali yot DNK ketma-ketliklaridan xoli bo‘lgan, lekin kerakli mutatsiyani saqlab qolgan liniyalarni olish mumkin. Bu esa, olingan yangi sholi liniyalarini bioxavfsizlik nuqtai nazaridan an’anaviy seleksiya navlariga tenglashtirish va amaliyotga joriy etish jarayonini tezlashtiradi.

MUAMMOLAR VA KELAJAKDAGI ISTIQBOLLAR

CRISPR/Cas9 genom tahrirlash texnologiyasi sholi seleksiyasida ulkan imkoniyatlar eshigini ochgan bo‘lsa-da, uni keng ko‘lamli amaliyotga joriy etishda muayyan texnik va me’yoriy (regulatory) to‘siqlar saqlanib qolmoqda:

Off-target effektlarini minallashtirish: Cas9 fermentining nishon bo‘lmagan genom sohalarida kutilmagan kesishlarni amalga oshirish xavfi hali ham mavjud. Ushbu muammoni bartaraf etish uchun yuqori aniqlikdagi yangi avlod fermentlaridan (*High-Fidelity Cas9, Cas12a/Cpf1*) foydalanish va gRNA dizaynini in-silico algoritmlar orqali puxta shakllantirish talab etiladi.

Ko‘pgenli tahrirlash va epigenetik regulyatsiya: Sholini bir vaqtning o‘zida bir nechta abiotik va biotik stresslarga chidamli qilish uchun ko‘p genli (*multiplex*) tahrirlash strategiyalarini rivojlantirish zarur. Shuningdek, gen ketma-ketligini o‘zgartirmasdan, promotor sohalarining metillanish darajasini modifikatsiyalash (epigenetik tahrirlash) orqali ham moslashuvchanlikni oshirish istiqbolli yo‘nalishlardan biridir.

XULOSA

O‘tkazilgan tahlillar shuni ko‘rsatadiki, global iqlim o‘zgarishi va suv resurslarining cheklanganligi sharoitida sholi (*Oryza sativa L.*) hosildorligini saqlab qolish uchun CRISPR/Cas9 platformasi eng samarali va aniq molekulyar qurol hisoblanadi. An’anaviy seleksiyaning uzoq davom etishi hamda nojo‘ya genetik bog‘liqliklar kabi kamchiliklarini bartaraf etgan holda, genomdagi salbiy regulyator genlarni (*OsRR22, OsDST*) yo‘naltirilgan holda nokaut qilish sho‘rlanish va qurg‘oqchilikka kompleks chidamlilikni shakllantirish imkonini beradi.

Sholi liniyalarida ion gomeostazini saqlash va transpiratsiya jadalligini maqbullashtirish orqali olingan ijobiy fenotipik natijalar ushbu texnologiyaning amaliy salohiyatini tasdiqlaydi. Kelajakda transgene-free tahrirlash protokollarini mahalliy sholi navlariga tatbiq etish sho‘rlangan va kurak tuproqli hududlar uchun moslashuvchan, yuqori hosildor yangi navlarni yaratishda hamda oziq-ovqat

xavfsizligini barqaror ta’minlashda hal qiluvchi ilmiy-amaliy qadam bo‘lib xizmat qiladi.

ADABIYOTLAR RO‘YXATI

1.Chen, K., Wang, Y., Zhang, R., Zhang, H., & Gao, C. (2019). CRISPR/Cas genome editing and precision plant breeding in agriculture. *Annual Review of Plant Biology*, 70, 667–697.https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100049

2.Huang, X., Zhang, Z., & Gao, J. (2020). CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of the *OsRR22* gene improves salt tolerance in rice. *Molecular Breeding*, 39(3), 47–56.https://doi.org/10.1007/s11032-019-0955-x

PMC - NIH

3.Liu, C. T., Mao, B. G., Yuan, D. Y., Chu, C. C., & Duan, M. J. (2022). Salt tolerance in rice: Physiological responses and molecular mechanisms. *The Crop Journal*, 10(1), 13–24.https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.06.010

4.Osakabe, Y., Watanabe, T., Sugano, S. S., Ueta, R., Ishihara, R., Shinozaki, K., & Osakabe, K. (2016). Optimization of CRISPR/Cas9 genome editing to modify abiotic stress responses in plants. *Scientific Reports*, 6, 26685.https://doi.org/10.1038/srep26685

5.Wang, Y., Mao, Y., & Zheng, X. (2021). Targeted knockout of negative regulator genes via CRISPR/Cas9 for enhanced drought and salinity resilience in crops. *Plant Biotechnology Journal*, 19(4), 712–725.https://doi.org/10.1111/pbi.13501

6.Zhang, H., Zhang, J., Wei, P., Zhang, B., Gou, F., Feng, Z., Mao, Y., Yang, L., Zhang, H., Xu, N., & Zhu, J. K. (2014). The CRISPR/Cas9 system produces specific and homozygous targeted gene editing in rice in one generation. *Plant Biotechnology Journal*, 12(6), 797–807.https://doi.org/10.1111/pbi.12200

7.Zafar, K., Sedeek, K. E. M., Rao, G. S., Khan, M. Z., Amin, I., Kamel, R., Mukhtar, Z., Zafar, M., Mansoor, S., & Mahfouz, M. M. (2020). Genome editing

technologies for rice improvement: Progress, prospects, and safety concerns. *Frontiers in Genome Editing*, 2, 5.https://doi.org/10.3389/fgeed.2020.00005